

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) **公開特許公報 (A)**

(11)特許出願公開番号

特開平6-279255

(43)公開日 平成6年(1994)10月4日

(51)Int.Cl.⁵

A 6 1 K 7/48

7/00

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

9051-4C

K 9051-4C

J 9051-4C

W 9051-4C

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 4 頁)

(21)出願番号

特願平5-66908

(71)出願人 000166959

御木本製薬株式会社

三重県伊勢市黒瀬町1425番地

(22)出願日 平成5年(1993)3月25日

(72)発明者 下村 健次

三重県伊勢市船江3-16-32

(72)発明者 中村 雅美

三重県鳥羽市池上町6-32

(74)代理人 弁理士 藤本 博光 (外2名)

(54)【発明の名称】 ヒアルロニダーゼ阻害剤

(57)【要約】

【構成】 貝類の粘液を加水分解して得られる物質を主成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【目的】 化粧料中のヒアルロン酸、皮膚に存在するヒアルロン酸の分解を防ぎ、安定に寄与する。従って皮膚の潤滑性と柔軟性を保ち細菌感染を防止し、老化による小ジワやかさつきを防ぎ、肌のつやや肌のはりを良好に保つ。

【特許請求の範囲】

【請求項1】貝類の粘液を加水分解して得られる物質を主成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項2】加水分解の前及び／または後に、脱塩処理してなる請求項1記載のヒアルロニダーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は他の目的の食品、医薬品等に多年内用され、安全性が保証された物質を用いて、皮膚の潤滑性、柔軟性を保ち、老化を防ぐヒアルロン酸を分解するヒアルロニダーゼの活性を抑制して、皮膚の小ジワやかさつきを防ぐヒアルロニダーゼ阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術】本出願人は特開昭63-57507号公報により、貝類の粘液を加水分解することを特徴とする化粧品原料の製造方法に関して提案した。粘液の回収は、貝類の貝殻を脱殻し（真珠を含有しているものは真珠を取り出した後に脱殻し）、加圧して、又は加圧することなくデカンテーション、涙過、遠心分離等によって行う。

【0003】粘液源である貝類としては、アコヤ貝（*Pinctada martensi*）、イガイ（*Mytilus coruscum*）、イケチョウガイ（*Hyriopsis schlegelii*）、カラスガイ（*Cristaria plicata*）等ウグイスガイ科、イガイ科、イシガイ科等が好適であるが、他の貝類も自由に使用でき、原料供給の点で問題はない。特に好適なものは、アコヤ貝（真珠貝）である。

【0004】このようにして採取した粘液は、そのまま加水分解または透析等の脱塩の操作を行ってもよいが、海水を多く含むときなど処理量が多くなるので、加熱、あるいは水溶性有機溶媒たとえばエタノール、メタノール、イソプロパノール、アセトン、または無機塩類たとえば硫酸アンモニウム、塩化ナトリウム、を加えて沈澱させて遠心分離、涙過等で沈澱を集めて処理量をすくなくなる。

【0005】ただし、加熱処理では一部しか沈澱してこない場合があるので、加圧して約120～150℃まで加熱すると大部分が沈澱する故、最適な処理を用途に応じて選択する。沈澱処理を行うと、上記したように以後の処理が容易となるほか、化粧品原料としての効果が更に高まり、また保存性も高まる。これらの目的を達成するため、沈澱処理を行うほか、常法により凍結乾燥したり減圧低温濃縮処理を行ってもよい。これらの処理は、単独でもまた併用することも可能である。

【0006】貝粘液は、沈澱処理を経て又は経ることなく、酸、アルカリ、又は酵素によって加水分解処理して、粘液成分を低分子化する。加水分解は、酸たとえば塩酸、硫酸、酢酸、乳酸などを濃度、温度を必要な条件

にして用いることができる。アルカリとしては、NaOH、NH₄OH等が利用できる。

【0007】そして酵素を用いて加水分解する場合には、蛋白分解酵素たとえばトリプシン、パパイン、プロナーゼ、等動植物起源、微生物起源の酵素が適宜利用できる。酵素を利用すれば、酵素の特異性を利用して必要な分子量、目的のペプチドが得られ、トリプトファン等の分解も無く、分解による副生物も少ないので加水分解は酵素で行うのがよい。このようにして、貝粘液を酸、アルカリ、酵素を用いて、必要な分子量まで分解して脱塩する。或いは脱塩したのち分解する。

【0008】脱塩は必ずしも必要としないが化粧品、特にエマルジョンでは乳化の破壊が起こる場合もあるので用途に応じて脱塩するのがよい。脱塩は、例えば次のようにして行う：水又は約40～80%のエタノール水溶液を用いてくり返し洗浄する方法；透析、ゲル涙過、限外涙過、塩析による方法；陽イオン交換樹脂、スネークゲイジイオン交換樹脂を用いる方法；キレート交換樹脂をCu⁺⁺型にして用いる方法；クロマトグラフィーによる方法等。これらの脱塩処理は、単独でも又組合せて用いてもよい。

【0009】脱塩の方法では水を用いてあるいは40～80%のエタノールを用いるときは、試料を沈澱させたのちでなければ用いることができないのは当然である。また脱塩の方法が水を用いた場合試料の一部が流失するときがあるので、沈澱処理の方法が加熱して沈澱させた方法を用いたときに利用するとよい。

【0010】40～80%のエタノールを用いると製品の着色が少なく、よい結果が得られる。脱塩の方法でキレート交換樹脂をCu⁺⁺型にして用いる方法は、塩分が多いときは他のイオン交換樹脂に比べて樹脂量が少なくてすむという利点がある。

【0011】脱塩処理は、前記のように加水分解処理後に行ってもよく、加水分解処理の前に行ってもよい。必要があれば加水分解の前及び後に行うことも差支えない。ただし、加水分解後に行う場合は、加水分解によって試料が低分子化しているので、有効成分の流亡を避けるため、イオン交換樹脂、クロマトグラフィ等の処理を実施するのが好適である。

【0012】この特開昭63-57507号公報では、貝類の粘液を加水分解する化粧品原料の製造方法については記載されているが、その原料の効果については整肌効果がある旨の記載だけである。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、貝類の粘液から得た加水分解物の新たな用途を提供することである。

【0014】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、貝類の粘液の加水分解物の新たな効果を研究するうちに、この物

質がヒアルロニダーゼ阻害効果を有することを見いだし、本発明を完成した。

【0015】すなわち本発明は、(1)貝類の粘液を加水分解して得られる物質を主成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤である。

【0016】また加水分解の前および/または後に、脱塩処理してなる前記(1)記載のヒアルロニダーゼ阻害剤である。

【0017】貝類の粘液の利用方法としては、貝類の粘液なら特に種類を問わないが真珠養殖に用いるアコヤ貝は真珠養殖後、貝柱以外は食用とはならず海洋汚染などの問題があり、本発明者らはアコヤ貝を利用するのがよいと考える。この貝類の粘液を加水分解する方法については、前記の従来技術の項に記載した方法によればよい。本発明はこの貝類粘液の加水分解物の用途発明である。

【0018】この物質の利用方法としては、この物質を他の化粧品原料例えはスクワラン、ホホバ油等の液状油、ミツロウ、セチルアルコール等の固体油、各種の活性剤、グリセリン、1,3ブチレングリコール等の保湿剤や各種薬剤等を添加してさまざまな剤形の化粧料を調製することができる。例えばローション、クリーム、乳液、パック等で目的に応じて利用形態を考えればよい。

【0019】ヒアルロニダーゼは、生体中に広く分布し、皮膚にも存在する酵素で、その名の通りヒアルロン酸を分解する。ヒアルロン酸は β -D-N-アセチルグルコサミンと β -D-グルクロン酸が交互に結合した直鎖状の高分子多糖で、コンドロイチン硫酸などとともに哺乳動物の結合組織に広く存在するグリコサミノグルカンの一種である。

【0020】結合組織内でのヒアルロン酸の機能として、細胞間隙に水を保持し、また組織内にジェリー状の

(実施例-1) ローション

オリーブ油	0.5
ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノステアレート	2.0
ポリオキシエチレン(60E.O.)硬化ヒマシ油	2.0
エタノール	10.0
製造例の5.0%水溶液	5.0
精製水	80.5

【0025】

(実施例-2) クリーム

A スクワラン	20.0
オリーブ油	2.0
ミンク油	1.0
ホホバ油	5.0
ミツロウ	5.0
セトステアリルアルコール	2.0
グリセリンモノステアレート	1.0
ソルビタンモノステアレート	2.0

【0026】

マトリックスを形成して細胞を保持したり、皮膚の潤滑性と柔軟性を保ち、外力(機械的障害)および細菌感染を防止していると考えられている。皮膚のヒアルロン酸は歳をとるにつれて減少し、その結果小ジワやかさつきなどの老化をもたらすといわれている。

【0021】従って、これを分解するヒアルロニダーゼの活性を抑制することは、製剤に使用されているヒアルロン酸の安定性や、皮膚に塗布した後の製剤のヒアルロン酸及び皮膚に存在していたヒアルロン酸の安定に寄与すると考えられる。また、ヒアルロニダーゼは炎症酵素としても知られ、活性抑制することは炎症を抑え、また、アレルギーにも抑制的に働くことが知られている。本発明者らは、前記貝類粘液の加水分解物が、このヒアルロニダーゼの活性を抑制する作用を有することを見だした。

【0022】

【実施例】以下に実施例によって、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこの実施例によって何等限定されるものではない。

(製造例) 三重県産のアコヤ貝(Pictada marenensis、真珠採取後の廃棄貝)を原料に用いた。上記アコヤ貝を10.0kg脱殻し、これをデカンテーション又は、遠心分離して粘液270gを得た。

【0023】この粘液100gにエタノールを等量くわえて、5°Cに放置したのち遠心分離した。残留物に精製水20mlを加えて攪拌しエタノール20mlを加えて攪拌したのち遠心分離した。これを8回繰り返した。これに精製水200mlを加えて攪拌したのちアクチナーゼE(商品名)を0.5g加えて攪拌しつつ、50°Cで6時間放置した。その後100°C30分間加熱後、沪過(東洋沪紙No.5C)した。これを凍結乾燥した。

【0024】

0.5
2.0
2.0
10.0
5.0
80.5

20.0
2.0
1.0
5.0
5.0
2.0
1.0
2.0

B 精製水	43.9
ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノステアレート	2.0
ポリオキシエチレン(60E.O.)硬化ヒマシ油	1.0
グリセリン	5.0
製造例の5.0%水溶液	5.0
1.0%ヒアルロン酸ナトリウム水溶液	5.0
パラオキシ安息香酸メチル	0.1

AとBをそれぞれ計量し、70℃まで加温し、BにAを搅拌しつつ徐々に加えたのち、ゆっくり搅拌しつつ30℃まで冷却した。

【0027】(ヒアルロニダーゼ活性抑制試験)

(試験方法) 0.4%ヒアルロン酸ナトリウム0.1M(pH 6.0)リン酸緩衝溶液を6gはかりとり、37℃恒温水槽で5分間放置後、試料の規定の濃度の水溶液1.0mlを加え搅拌し、0.01%ヒアルロニダーゼ(シグマ社製牛睾丸製、タイプI-S)0.1M(pH

6.0)リン酸緩衝溶液を1ml加えて直ちに搅拌し、6mlを37℃の恒温水槽に入れたオストワルド粘度計に入れた。これを1分後、5分後、10分後、20分後、40分後に粘度を測定した。対照として、上記試料液のかわりに純水を加え同様に測定した。この試験では試料の終濃度は検体の濃度の1/8となる。1分後の粘度を100として、結果を指数で表1に示す。

【0028】

【表1】

検体	検体の濃度 終濃度%	5分後	10分後	20分後	40分後
対照		77.1	60.9	43.0	28.1
製造例	0.125	90.0	80.6	68.0	52.9

【0029】(使用テスト)女性6名の顔面を左右に分け、一方を実施例1, 2、もう一方を比較例1, 2として毎日、1回以上使用してもらって、3月後、アンケートした。なお、比較例1, 2は実施例1, 2より貝類粘液の加水分解液(製造例)を水にかえたものである(比較例1, 2)

【0030】判定基準は以下のようにアンケートの結果を合計してまとめたのが以下の表2である。

実施例の方が非常によい	3
実施例の方がかなりよい	2
実施例の方がややよい	1
差がない	0
比較例の方がややよい	-1
比較例の方がかなりよい	-2
比較例の方が非常によい	-3

【0031】

【表2】

	肌のつや	肌のはり
使用テスト結果	8	11

【0032】

【発明の効果】ヒアルロニダーゼ活性抑制試験の結果より明らかのように、貝類粘液の加水分解物には顕著なヒアルロニダーゼ活性抑制効果が認められる。従って化粧料に使用されているヒアルロン酸の安定性や、皮膚に塗布した後の化粧料中のヒアルロン酸、元来皮膚に存在していたヒアルロン酸の安定に寄与する。従って皮膚の潤滑性と柔軟性を保ち、細菌感染を防止し、老化による小ジワやかさつきを防ぎ、肌のつや、肌のはりを良好に保つ。